

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-311616

(43)Date of publication of application : 09.11.1999

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

(21)Application number : 10-119174

(71)Applicant : SHIMADZU CORP

(22)Date of filing : 28.04.1998

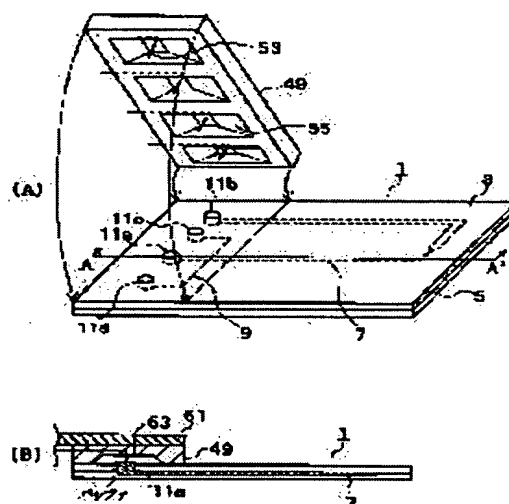
(72)Inventor : ARAI AKIHIRO

## (54) MICROCHIP ELECTROPHORESIS APPARATUS

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To improve operability when an electrode is inserted into a microchip electrophoresis apparatus, restrict the evaporation of a migration liquid at electrophoresis and maintain reproducibility also for a extended analysis.

**SOLUTION:** After a migration liquid and a sample are injected to a separation passage 7 and a sample injection passage 9 of a microchip 1, the microchip 1 is moved to a predetermined position of a microchip electrophoresis apparatus. An electrode pad-holding plate 51 is lowered, thereby bringing electrode pads 49 formed of an elastic insulating material in tight contact with a surface of the microchip 1. Each reservoir 11 is coated with the corresponding electrode pad 49, and a Pt electrode 53 is inserted to each reservoir 11. A predetermined voltage is impressed to each reservoir 11 in accordance with a program. The sample of a fixed quantity is injected and separated in the passages 7, 9, and separated components are detected by a detecting mechanism.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

03.09.2004

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-311616

(43) 公開日 平成11年(1999)11月9日

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>  
G01N 27/447

識別記号

F I  
G01N 27/26

331 E

審査請求 未請求 請求項の数 1 O I (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平10 119174

(22) 出願日 平成10年(1998) 4月28日

(71) 出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72) 発明者 荒井 昭博

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

株式会社島津製作所三条工場内

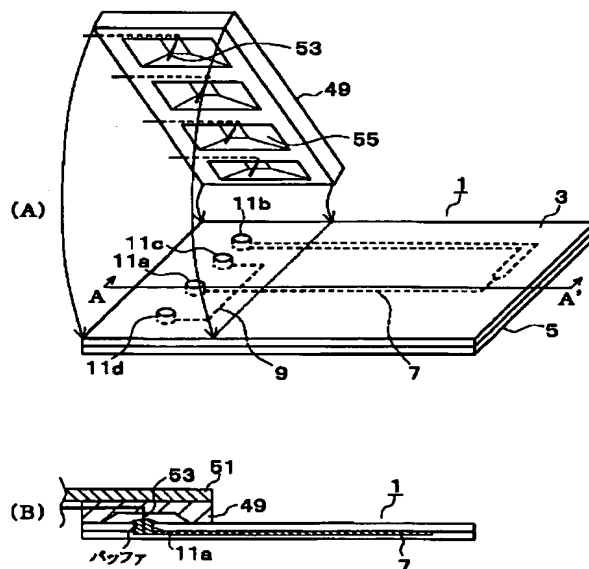
(74) 代理人 弁理士 野口 繁雄

(54) 【発明の名称】 マイクロチップ電気泳動装置

(57) 【要約】

【課題】 マイクロチップ電気泳動装置の電極挿入時の操作性を向上し、かつ電気泳動時の泳動液の蒸発を抑制して長時間の分析にも再現性を保つ。

【解決手段】 マイクロチップ1の分離流路7及び試料注入流路9に泳動液及び試料を注入した後、マイクロチップ電気泳動装置の所定の位置にマイクロチップ1を移動させる。電極パッド保持板51を下降させ、弾性体絶縁材料からなる電極パッド49をマイクロチップ1の表面に密着させ、各リザーバ11上を電極パッド49でそれぞれ被うとともに、Pt電極53を各リザーバ11に挿入する。各リザーバ11に所定の電圧をプログラムに従って印加して流路7、9内で試料の定量注入及び分離を行ない、検出機構により分離成分を検出する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 一対の透明板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝が形成され、一方の板状部材には前記溝に対応する位置に貫通する穴が設けられ、これら板状部材がその溝を内側にして貼り合わされてその溝により互いに交差する分離流路と試料導入流路を形成してなるマイクロチップを用い、泳動液が充填された前記分離流路及び前記試料導入流路の両端に電圧を印加して試料を電気泳動させる電圧印加手段と、分離した試料成分を検出する検出手段と、前記マイクロチップを位置決めする手段と、を備えたマイクロチップ電気泳動装置において、弾性体絶縁材料からなり、その弾性体絶縁材料には前記マイクロチップの貫通穴に対応した凹部が形成され、その凹部には電源に接続され凹部側で前記弾性体絶縁材料から突き出した電極が配置され、電気泳動時には前記弾性体絶縁材料が前記マイクロチップ表面に密着して前記貫通穴上を個々に被うとともに前記電極を前記貫通穴に挿入する電極保持部材を備えたことを特徴とするマイクロチップ電気泳動装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、極微量の試料を高速かつ高分離で分析する電気泳動装置に関し、さらに詳しくは 2 枚の透明板状部材を貼り合わせて内側に形成された分離流路で電気泳動を行なうマイクロチップを用いたマイクロチップ電気泳動装置に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】極微量のタンパク質や核酸などを分析する場合には、従来から電気泳動法が用いられており、その装置化技術の例としてキャピラリー電気泳動装置がある。キャピラリー電気泳動装置は、内径が 100  $\mu$ m 以下のガラスキャピラリー内に泳動バッファ（泳動液）を充填し、一端側に試料を導入した後、両端間に高電圧を印加して分析対象物をキャピラリー内で分離展開させるものである。キャピラリー内は容積に対して表面積が大きい、すなわち冷却効率が高いことから、高電圧の印加が可能となり、DNA などの極微量試料を高速、かつ高分解能にて分析することができる。

【0003】近年、取扱いが煩雑なフューズドシリカ・キャピラリーに代わって、分析の高速化、装置の小型化が期待できる形態として、D. J. Harrison et al. / Anal. Chim. Acta 283 (1993) 361-366 に示されているように、2 枚の基板を接合して形成されたキャピラリー電気泳動チップ（マイクロチップという）が提案されている。マイクロチップは、一対の透明基板（一般にはガラス、石英、樹脂など）からなり、一方の板状基板の表面にエッチングなどにより少なくとも 2 本の流路が互いに交差するように形成され、他方の板状基板には流路に対応する位置に貫通穴が設けられている。そのマイクロチ

ップの一例を図 1 に示す。

【0004】マイクロチップ 1 は、一対の透明基板 3、5 からなる。基板 5 の表面に互いに交差する分離流路 7 及び試料注入流路 9 がエッチングなどにより形成されている。基板 3 には流路 7、9 の端に対応する位置に貫通穴が形成されており、分離流路 7 の端に対応する位置の貫通穴はバッファリザーバ 11 a 及びドレイン 11 b となり、試料注入流路 9 の端に対応する位置の貫通穴はサンプルリザーバ 11 c 及びサンプル廃液溜め 11 d となる。

【0005】検出には一般にレーザ蛍光検出法を用いる。マイクロチップ電気泳動では試料の導入及び分離は全てリザーバ 11 a ~ 11 d に適当な電圧を印加して行なうので、そのための高圧電源及び高圧リレーシステムが必要である。分析を開始する前に、予めシリンジ等でバッファリザーバ 11 a から泳動液を流路 7、9 に充填し、その後、サンプルリザーバ 11 c に数  $\mu$  リットルの試料を注入する。その後、各リザーバ 11 a ~ 11 d に適当な電圧を印加して分析を行なうが、リザーバに電圧を印加するための電極の形状にはいくつかのものがあ

る。図 2 にその一例を示す。

【0006】図 2 は、マイクロチップとともに電極の形状を表す斜視図であり、(A) は棒状の Pt 電極をリザーバに挿入したもの、(B) は Au などをマイクロチップ上及びリザーバ内壁に蒸着したものである。

(A) では、マイクロチップ 1 の各リザーバ 11 に Pt 電極 19 が挿入されており、Pt 電極 19 は高圧電源に接続されている。

(B) では、蒸着によりマイクロチップ 1 上及びリザーバ 11 内壁に Au 電極 21 が形成されており、Au 電極 21 はソケット 23 を介して高圧電源に接続される。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】図 2 (A) のように、電極 19 を各リザーバに手操作で入れるのは煩雑な操作であり、かつ確実とはいえない。この問題は、図 2

(B) のように、電極 21 をマイクロチップ 1 上に一体形成し、ソケット 23 に接続することにより解消されるが、マイクロチップの作製プロセスが増え、コストも高くなるという欠点がある。

【0008】また、図 2 に示した電極形状では、いずれもリザーバ 11 a ~ 11 d が空気中に開放されているため、泳動液及び試料溶媒が蒸発する。泳動液の蒸発により、泳動液の濃度が大きくなり、電圧を印加したときの発熱量が大きくなって温度変化が生じる。その結果、再現性が低下するという問題があった。さらに、泳動液の蒸発により、泳動液の粘性の変化が生じたり、リザーバでのバッファ液面の高さの変化により泳動液自体に流れが生じたりして、この点からも再現性に影響が出るという問題もあった。このように、従来の装置では長時間の分析が困難であった。

【0009】そこで、本発明は、電極挿入時の操作性を向上し、かつ泳動液の蒸発を抑制して長時間の分析にも再現性を保つことができるマイクロチップ電気泳動装置を提供することを目的とするものである。

#### 【0010】

【課題を解決するための手段】本発明によるマイクロチップ電気泳動装置は、一対の透明板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝が形成され、一方の板状部材にはその溝に対応する位置に貫通する穴が設けられ、これら板状部材がその溝を内側にして貼り合わされてその溝により互いに交差する分離流路と試料導入流路を形成してなるマイクロチップを用い、泳動液が充填された分離流路及び試料導入流路の両端に電圧を印加して試料を電気泳動させる電圧印加手段と、分離した試料成分を検出する検出手段と、マイクロチップを位置決めする手段と、を備えたマイクロチップ電気泳動装置であって、弾性体絶縁材料からなり、その弾性体絶縁材料にはマイクロチップの貫通穴に対応した凹部が形成され、その凹部には電源に接続され弾性体絶縁材料から突き出した電極が配置され、電気泳動時には弾性体絶縁材料がマイクロチップ表面に密着して貫通穴上を個々に被うとともに電極を貫通穴に挿入する電極保持部材を備えたものである。

【0011】マイクロチップの分離流路、試料導入流路及び貫通穴に泳動液を充填し、さらに試料を注入した後、マイクロチップ電気泳動装置の所定の位置にマイクロチップを固定する。次に、電極保持部材をマイクロチップ表面に密着させる。電極は電極保持部材の貫通穴に対応する位置に配置されているので、電極保持部材の装着と同時にそれぞれの貫通穴に電極が挿入される。また、各貫通穴上は電極保持部材により被われるので、泳動液及び試料溶媒の蒸発を抑えることができる。

#### 【0012】

【実施例】図3は、マイクロチップ電気泳動装置の一実施例を表す概略構成図である。図4は、本発明にかかる電極保持部の一実施例をマイクロチップとともに表す図であり、(A)は斜視図、(B)は(A)のA-A'に沿った位置での断面図である。

【0013】マイクロチップ電気泳動装置25には、図1に示すマイクロチップ1を固定するテーブル29が備えられており、テーブル29はモータ31により駆動される直線状軌道軸33に沿って移動するように支持されている。マイクロチップ1は、モータ31を駆動することにより、テーブル29とともに直線状軌道軸33上を移動する。直線状軌道軸33の上方には、バッファ充填・試料導入機構35、電極保持部37及び検出機構39が順に設けられている。

【0014】破線で示されたマイクロチップ電気泳動装置25の外側にあるテーブル29の位置はマイクロチップ1を装着するチップ装着位置である。バッファ充填・

試料導入機構35は、マイクロチップ1のリザーバ11a、11cに挿入されるノズル41、ノズル41にバッファ又は試料を送るシリンジ43、バッファを蓄えるバッファ溜め容器45、及びシリンジ43とバッファ溜め容器45の流路を切り替えてノズル41に接続するバルブ47から構成される。試料は、ノズル41及びシリンジ43により、テーブルの横に設置された試料バイアル(図示せず)からマイクロチップ1のリザーバ11cに1~2 $\mu$ l程度が分注される。

10 【0015】電極保持部37は、例えばシリコンゴムなどの絶縁性弾性体からなる電極パッド49、電極パッド保持板51、Pt電極53から構成される。電極53は電極パッド49に埋め込まれ、その一端は、電極パッド49のマイクロチップ1に接する面の各リザーバ11a~11dに対応する位置に形成された凹部55の中央から突き出し、電極パッド49の凹部53側の表面よりも1~2mm突出している。他端は高圧電源57に接続されている。電極パッド49は電極パッド保持板51に固定されており、電極パッド保持板51及びパッド49を上下移動させる電極昇降機構59が備えられている。検出機構39はレーザ励起蛍光法又は吸光度検出法によるものであり、光源61、スリット63、レンズ65、ハーフミラー67及び受光器69から構成されている。

【0016】次に、この実施例を用いた電気泳動時の動作について説明する。マイクロチップ1はチップ装着位置でテーブル29に装着される。モータ31を駆動してテーブル29を直線状軌道軸33に沿って移動させ、マイクロチップ1をバッファ充填機構35の所定の位置に位置決めする。バッファリザーバ11aにシリンジ41  
30 が挿入され分離流路7及び試料注入流路9に泳動液が充填される。充填された泳動液は図4(B)に示すように、マイクロチップ1の表面より盛り上がりて各リザーバ11a~11d及び流路9、11に充填される。次に、サンプルリザーバ11cに1~2 $\mu$ リットルの試料が導入される。

【0017】次に、モータ31を駆動してテーブル29を検出機構39の所定の位置に位置決めする。電極昇降機構59を駆動して電極パッド保持板51を下降させ、電極パッド49をマイクロチップ1の表面に密着させ、各リザーバ11a~11d上を電極パッド49でそれぞれ被うとともに、Pt電極53を各リザーバ11a~11dに挿入する。これにより、各リザーバ11a~11dがシールされてバッファの蒸発を防止する。さらに、各電極53が隔離され放電対策になる。高圧電源57により、各リザーバ11に所定の電圧をプログラムに従って印加して流路7、9内で試料の定量注入及び分離を行ない、検出機構39により分離成分を検出する。

【0018】分析終了後、電極昇降機構59を駆動して電極パッド保持板51を上昇させ、テーブル29を移動させてバッファ充填位置にマイクロチップ1を移動して

流路 7、9 の洗浄並びに新たな泳動液及び試料の注入を行なうか、又はチップ装着位置まで移動させてマイクロチップの交換を行なう。マイクロチップのデザインを代える場合、電極はリザーバと対応する位置に取付けられている必要があるので、電極 5 3 を含む電極パッド 4 9 も同時に交換する。

#### 【 0 0 1 9 】

【発明の効果】本発明によるマイクロチップ電気泳動装置は、弾性体絶縁材料からなる電極パッドを備え、その電極パッドにはマイクロチップの貫通穴に対応する位置に凹部が形成され、その凹部には電源に接続され電極パッド表面から突き出した電極が配置され、電気泳動時には電極パッドがマイクロチップ表面に密着して貫通穴上を被うとともに電極を貫通穴に挿入するので、電極挿入時の操作性を向上し、かつ泳動液の蒸発を抑制して長時間の分析にも再現性を保つことができる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図 1】 従来のマイクロチップの一例を表す斜視図である。

【図 2】 マイクロチップとともに従来の電極の形状を表す斜視図であり、(A) は棒状の P t 電極をリザーバ

に挿入したもの、(B) は A u などをマイクロチップ上及びリザーバ内壁に蒸着したものである。

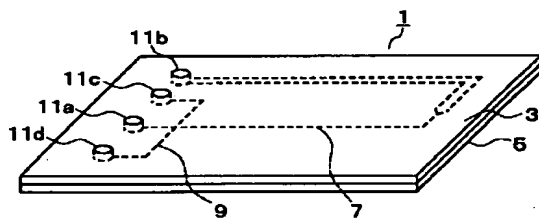
【図 3】 マイクロチップ電気泳動装置の一実施例を表す概略構成図である。

【図 4】 本発明にかかる電極保持部の一実施例をマイクロチップとともに表す図であり、(A) は斜視図、(B) は (A) の A-A' に沿った位置での断面図である。

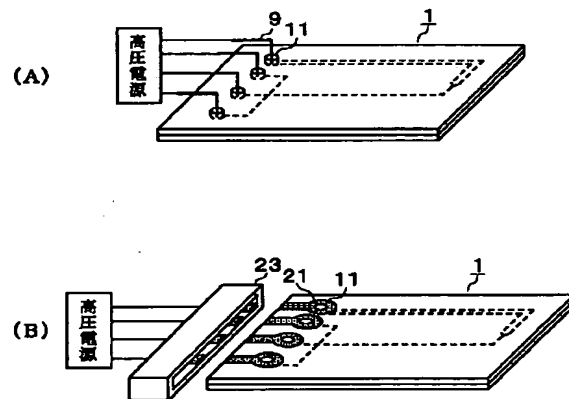
#### 【符号の説明】

- |        |          |
|--------|----------|
| 1      | マイクロチップ  |
| 7      | 分離流路     |
| 9      | 試料注入流路 9 |
| 11 a   | バッファリザーバ |
| 11 b   | ドレイン     |
| 11 c   | サンプルリザーバ |
| 11 d   | サンプル廃液溜め |
| 4 9    | 電極パッド    |
| 5 1    | 電極パッド保持板 |
| 5 3    | P t 電極   |
| 20 5 5 | 凹部       |

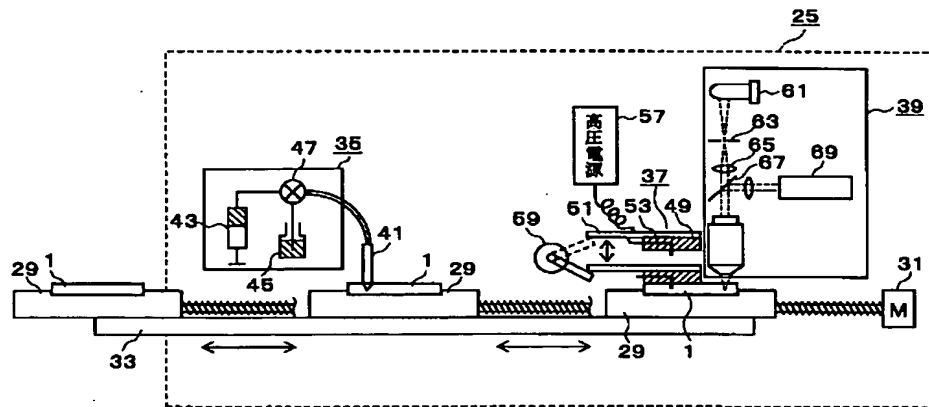
【図 1】



【図 2】



【図 3】



【図4】

